

茯苓의 抗菌力에 관한 研究

李國盛·李敏雄·李址烈*
東國大學校 應用生物學科·서울女子大學 教養學科*

Studies on the Antibacterial Activity of *Poria cocos*

Kook Sung Lee, Min Woong Lee and Ji-Yul Lee*

Department of Applied Biology, Dongguk University, Seoul 100 and

*Department of General Education, Seoul Woman's
College, Seoul 132, Korea

Abstract: The antibacterial activity of *Poria cocos* against the human pathogenic bacteria and general bacteria was observed. The results obtained were as follows; 1. There wasn't any antibacterial activity at the *Poria cocos* powders, pieces and its extracts in every different kinds and places of origin. 2. Hyphae of *Poria cocos* in every different kinds and places of origin had the antibacterial activity against four Gram positive bacteria, i.e., *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Bacillus subtilis* and *Streptococcus faecalis*, on the other hand, hadn't the antibacterial activity against six Gram negative bacteria, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* and *Klebsiella pneumoniae*. 3. The average inhibitory zone was 13.6mm for *S. aureus*, 14.7mm for *S. epidermidis*, 12.7mm for *B. subtilis*, and 13.2mm for *S. faecalis* at the concentration of 335 μ g of hyphae of *Poria cocos*.

緒 論

茯苓은 眞菌綱 擔子菌亞綱 多孔菌科 茯苓菌에 屬하는 것으로 주로 소나무 뿌리에 寄生, 或은 腐生生活을 한다.

申(1973)에 依하면 茯苓은 소나무를 切除한 5~6年後 松根주위에 死物寄生하는 一種의 菌核으로서 淡白色의 것을 白茯苓, 淡褐赤色의 것을 赤茯苓, 松根을 包含하고 있는 것을 茯神이라 稱하는데 黑松에는 白茯苓, 赤松에는 赤茯苓이 생긴다고 하였다.

茯苓은 F.A. Wolff(1922)가 菌核에 子實體를 形成시켜 *Poria*屬으로 옮겼으며, 茯苓의 主成分은 炭水化合物, 粗纖維質, 無機物, 微量의 蛋白質等으로서 東醫寶鑑에서는 水腫, 淋疾 등에 利尿劑로 쓰이며 泄瀉, 停飲 心悸亢進 및 神經安定 등에 效果가 있는 것으로 알려져 있다. 中國에서는 오래前부터 茯苓에 관한 研究가 活潑하여 茯苓의 形態學的 觀察 및 特徵, 採集記, 栽培法等을 紹介하고 있으며, Badcock(1941), Jennison

(1949), Robbins (1950), 그리고 最近에 李(1980)에 依해 人工培養에 관한 報告가 있으며, Robbins, W.J. (1947), Laviano(1949)는 擔子菌의 抗菌作用에 關하여, Lucas(1957), Everette(1963), Olson(1965), Marlin (1966) 등은 擔子菌 및 곰팡이로부터 抗癌效果가 있음을 報告한 바 있으나, 特히 茯苓에 關한 抗菌性은 調査된 바가 없다.

著者는 茯苓의 抗菌性 有無에 깊은 關心을 가지고 茯苓이 人體病原性細菌 및 一般細菌에 미치는 抗菌效果에 對하여 研究한 結果 有意할만한 成績을 얻었기에 報告한다.

實驗材料 및 方法

1. 材 料

1) 茯苓: 全北 南原, 江原道 華川의 2個處에서 產地別로 收集하였으며, 種類는 白茯苓과 赤茯苓을 各各使用하였다.

2) 茯苓切片, 茯苓粉末, 茯苓抽出物, 茯苓菌絲; 實

驗方法에 기재된 대로 처리하여 사용

3) 供試菌株; 國立保健研究院으로 부터 분양받은 10種의 菌株를 菌株保存用 培地(S.I.M.)에 接種保存하고 必要時마다 繼代培養하여 使用하였다.

Staphylococcus aureus, *S. epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus faecalis*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*

4) 培地; 本 實驗에 使用된 培地는 다음과 같다.

① P.D.A. 寒天(potato dextrose agar)培地

potato 200g, dextrose 25g, agar 20g, 蒸溜水 1,000 ml, pH5.5~6.0

② Müller-Hinton寒天培地, BBL

③ B.H.I. 寒天(brain heart infusion agar) 培地, BBL

④ T.S.B. (trypticase soy broth)培地

trypticase 15.0g, phytone 5.0g, sod. chloride 5.0g, 蒸溜水 1,000ml

⑤ S.I.M. (sulfide indole motility)培地, GIBCO

2. 方 法

다음의 實驗을 產地別 및 種類別로 實施하였다.

1) 茯苓粉末의 抗菌力에 관한 實驗

茯苓粉末의 抗菌力을 調査하기 爲하여 表皮를 切開하여 細切하고 室溫에서 完全 乾燥된 것을 粉末로 만들어 各各 10, 50, 100mg씩 Müller-Hinton agar培地에 混合하고 10個 供試菌株를 各各 塗抹接種하여 37°C에서 24hrs時間 培養하였다.

2) 茯苓切片의 抗菌力에 관한 實驗

10個 供試菌株를 各各 T.S.B.에 24時間 增菌培養하고 Müller-Hinton agar培地에 高르게 塗抹한 後 茯苓 表皮를 切開하고 滅菌된 cork borer(直徑 0.7cm)로 떼어 接種 培養하였다.

3) 茯苓抽出物의 抗菌力에 관한 實驗

表皮를 切開한 茯苓 各 100g을 mortar로 磨碎하고 室溫에서 蒸溜水, alcohol, acetone, ether, chloroform 各 400ml에 48時間 溶出시킨 後 gauze로 거르고 다시 濾過紙로 濾過한 後 抽出裝置로 抽出하였다. 이와 같은 抽出物을 前記 10個 供試菌株에 對해 各各 10, 50, 100

mg씩 Müller-Hinton agar培地에 混合하여 37°C에서 24時間 培養하였다.

4) 茯苓菌絲의 抗菌力에 관한 實驗

P.D.A.培地에 冷藏庫에 保存된 1個의 切片을 無菌狀態下에서 7日間 接種培養하고 滅菌된 cork borer(直徑 0.7cm)로 떼어낸 조각을 接種源으로 하여 4週間 P.D.A.培地에서 充分히 繼代培養된 茯苓菌絲를 같은 크기의 滅菌 cork borer로 떼어서 2)와 같은 方法으로 接種 培養하여 茯苓菌絲에 對하여 感受性을 보이는 細菌을 選定하였다.

5) 茯苓菌絲에 對한 感受性試驗

① 乾燥菌體量 測定(直徑 0.7cm cork borer로 1回 採取한 量)

滅菌한 cork borer로 P.D.A.培地에서 4週間 純粹 培養된 茯苓菌絲를 30回 取하여 cork borer 1회에 該當하는 乾燥菌體量을 測定하였다. 이와 같은 實驗은 5回 反復測定하여 平均값을 求하였다.

② cork borer의 各 크기에 따른 平均乾燥菌體量 測定

cork borer 各 크기에 따른 面積을 求하여 1號(直徑 0.5cm) 19.625mm², 2號(直徑 0.7cm) 38.465mm², 3號(直徑 0.9cm) 63.585mm², 4號(直徑 1.1cm) 94.985mm², 5號(直徑 1.3cm) 132.665mm²를 얻었으며, 2호 cork borer의 面積38.465mm²에 該當하는 平均乾燥菌體量 203μg을 基準으로 하여 各 크기에 따른 平均乾燥菌體量을 測定하였다(Table I).

③ 細菌培養液의 調劑 및 塗抹

B.H.I. agar培地에서 培養된 4個 細菌 集落을 tryptic case soy broth에 2~5時間 培養 後 MacFarland Nephelometer 表準濁度(1% H₂SO₄ 99.5ml와 1% BaCl₂ 0.5ml混合한 濁度)에 맞도록 食鹽水로 稀釋하고 滅菌 綿棒으로 各 細菌浮遊液을 製造當日의 Müller-Hinton agar培地에 3方向으로 高르게 塗抹하였다.

④ Disk susceptibility test(Kirby-Bauer Disk diffusion test) 4個細菌의 茯苓菌絲의 各 濃度別에 따른 感受性檢査를 爲해 直徑이 各各 0.5cm(1호), 0.7cm(2호), 0.9cm(3호), 1.1cm(4호), 1.3cm(5호)인 滅菌된 cork borer를 利用하여 P.D.A.培地에서 4週間 純粹培

Table I. Dry weights of hyphae of *Poria cocos* in volume of each cork borer size.

No. of cork borer	1	2	3	4	5
Width(mm ²)	19.625	38.465	63.585	94.985	132.665
Dry weights(μg)	103	203	335	501	700

養된 茯苓菌絲를 寒天까지 包含하여 뜯어서 上記 ③의 方法으로 塗抹한 Mueller-Hinton agar培地에 密着하게 늘려 30分 以內에 37°C에서 14時間 培養하고 그 後 cork borer까지 包含한 抑制帶의 지름을 caliper을 써서 測定하였다. 이와 같은 實驗은 3回 反復測定하여 平均값을 求하였다.

結 果

1. 茯苓粉末, 茯苓切片, 茯苓抽出物의 抗菌力에 關한 實驗結果는 產地別 및 種類別 모두 抗菌效果가 없는 것으로 나타났다.

2. 茯苓菌絲의 抗菌力에 關한 實驗에서는 10個 供試 菌株를 對象으로 實驗한 結果 Table II와 같이 產地別 및 種類別로 모두 4個菌株에 對해 發育을 抑制시켜 抑制帶가 形成되었으며, 6個 菌株에 對하여는 抑制帶가 形成되지 않았다.

3. 茯苓菌絲의 感受性 試驗

Kirby-Bauer disk diffusion法에 依한 濃度別 抑制帶

Table II. The antibacterial activity of the hyphae of *Poria cocos* cultured on P.D.A. during 4 weeks.

A place of origin	Hwa Chon, Kang Won Do		Nam Won, Jeon Buk	
	Brown rot	White rot	Brown rot	White rot
Kinds				
agar disk cm	0.7	0.7	0.7	0.7
Bacteria				
<i>S. aureus</i>	+	+	+	+
<i>S. epidermidis</i>	+	+	+	+
<i>B. subtilis</i>	+	+	+	+
<i>S. faecalis</i>	+	+	+	+
<i>S. typhi</i>	—	—	—	—
<i>S. dysenteriae</i>	—	—	—	—
<i>P. aeruginosa</i>	—	—	—	—
<i>E. coli</i>	—	—	—	—
<i>P. vulgaris</i>	—	—	—	—
<i>K. pneumoniae</i>	—	—	—	—

+ : inhibition — : no inhibition

Table III. The inhibitory zone of bacteria by the antibacterial activity of hyphae of *Poria cocos*.

Bacteria	A place of origin		Hwa Chon, Kang Won Do		Nam Won, Jeon Buk		Average
	d.(cm)*	Kinds dry weights(μg)	Brown rot	White rot	Brown rot	White rot	
<i>S. aureus</i>	0.5	103	8**	8	8	7.6	7.9
	0.7	203	12	10.3	11.6	10.3	11.1
	0.9	335	14	13.3	13.6	13.6	13.6
	1.1	501	17	17	17.6	16.6	17.1
	1.3	700	18.6	18	19	18.3	18.5
<i>S. epidermidis</i>	0.5	103	7	7	7	7	7
	0.7	203	13	12.3	12.6	12.3	12.5
	0.9	335	15	14.6	14.6	14.6	14.7
	1.1	501	17	18.3	18	18	17.8
	1.3	700	22.3	22.6	23.3	22.3	22.6
<i>B. subtilis</i>	0.5	103	7	7	7	7	7
	0.7	203	10.3	10	11	10.6	10.5
	0.9	335	12.6	13	13	12.3	12.7
	1.1	501	14.6	14	15	14.3	14.5
	1.3	700	17	17	17.6	17.6	17.3
<i>S. faecalis</i>	0.5	103	7	7.3	7.3	7	7.2
	0.7	203	10	10	10.3	11	10.3
	0.9	335	13	13.3	13.6	13	13.2
	1.1	501	17.6	18.3	18.3	17.3	17.9
	1.3	700	23.3	23	24.3	23.6	23.5

* diameter of each cork borer size

** diameter of inhibitory zone in mm.

의 크기는 Table III과 같이 *S. aureus*의境遇 103 μ g濃度에서 平均 7.9mm, 203 μ g濃度에서 11.1mm, 335 μ g濃度에서 13.6mm, 501 μ g濃度에서 17.1mm, 700 μ g濃度에서 18.5mm였으며, *S. epidermidis*의境遇 103 μ g濃度에서 平均 7mm, 203 μ g濃度에서 12.5 μ g 12.5mm, 335 μ g濃度에서 14.7mm, 501 μ g濃度에서 17.8mm, 700 μ g濃度에서 22.6mm였고, *B. subtilis*의境遇 103 μ g濃度에서 平均 7mm, 203 μ g濃度에서 10.5mm, 335 μ g濃度에서 12.7mm, 501 μ g濃度에서 14.5mm, 700 μ g濃度에서 17.3mm였으며, *S. faecalis*의境遇 103 μ g에서 平均 7.2mm, 203 μ g濃度에서 10.3mm, 335 μ g濃度에서 13.2mm, 501 μ g濃度에서 17.9mm, 700 μ g濃度에서 23.5mm로서 產地別 및 種類別에 따른 特異한 만한 差異는 없었으나 茯苓 菌絲의 濃度別에 따라 有意한 만한 差異를 나타냈다.

考 察

Robbins, W.J.(1947)는 느타리의 1種인 *Pleurotus griseus*로 부터 抗生物質을 發見하고 이를 *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *B. mycoides*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Photobacterium fisheri* 등 6個 細菌에 對한 發育抑制 效果等을 實驗報告하였으며, Laviano(1949)는 自然界로 부터 分離한 42種의 擔子菌을 가지고 抗菌力에 關한 實驗을 한 結果 이中 10餘種이 *S. aureus*에 對하여 弱한 抗菌力을 보였고, 5種은 一定하게 良好한 抗菌力을 나타냈다고 하였다. 처음 Robbins, W.J.等은 332種類의 擔子菌中 213種이 *S. aureus*에 對하여 成長抑制物質을 生産하였다고 하였으며, 그中 *Pleurotus griseus*가 가장 좋은 效果를 보였다고 하였다. 이 *Pleurotus griseus*를 Czapek-Dox agar培地에 接種하고 1~3週後 5.5mm disk 크기로 뚫어서 *S. aureus*를 混合한 yeast peptone agar培地에 接種한 結果 20mm크기의 分明한 抑制帶를 發見하였으나 *E. coli*에 對하여는 發育抑制效果가 없었다고 하였다. 그러나 이 *Pleurotus griseus*를 chloroform으로 抽出한 抽出物(pleurotin)은 發育抑制效果가 있었으며, 最小抑制濃度를 測定한 結果 *S. aureus* 0.8 μ g/ml, *B. subtilis* 0.2 μ g/ml, *B. mycoides* 1.6 μ g/ml, *Photo. fisheri* 6.0 μ g/ml이었고, *E. coli*와 *K. pneumoniae*等은 500 μ g/ml의 高濃度 狀態에서 細菌發育이 抑制되었다고 하였다.

Laviano는 42種의 擔子菌에서 于先 crude extract를 抽出하여 cylinder cup法과 滅菌한 0.7cm直徑의 cork

borer로 뚫은 切片 및 alcohol, acetone等으로 抽出한 抽出物로 區分하여 *S. aureus*, *Streptococcus hemolyticus*, *Escherichia coli*, *Mycobacterium phlei*, *M. smegmatis*, *M. tuberculosis (avian)*等 6個 細菌을 對象으로 實驗한 結果 *Poria sp.*에서는 抗菌力을 證明할 수 없었다고 하였다. 本 實驗에서도 茯苓의 粉末이나 切片 및 抽出物에 對한 實驗에서는 抗菌效果를 證明할 수 없었다. 이 點은 Laviano의 成績과 一致하나 P.D.A.培地에서 4週間 培養된 茯苓菌絲는 뚜렷한 抑制帶를 形成할 뿐 아니라 Table III과 같이 濃度에 따라 抑制帶의 크기에도 有意할만한 差異를 보여주고 있다. 이는 抗菌性物質이 乾燥한 粉末이나 茯苓抽出物에는 存在하지 않으며 人工培養의인 茯苓菌絲의 代謝過程에서만 生成되고 있음을 뜻하는 것으로 생각된다.

Laviano는 良好한 抗菌力을 나타내는 5種의 擔子菌은 모두 強한 酸性을 보이는데 이러한 水素이온濃度가 抗菌力을 나타내는 것인가를 糾明키 爲해 1/20N NaOH로 切片을 씻어 中和處理하여 實驗하였으나 抗菌力은 水素이온濃度와는 關係없이 나타났다고 하였다. 本 實驗에서도 抗菌力을 나타내는 物質이 무엇인지는 뚜렷이 糾明할 수 없었으나 特設할 만한 事實은 茯苓菌絲의 抗菌力이 Table II와 같이 *S. aureus*, *S. epidermidis*, *B. subtilis*, *S. faecalis*等 모두 그람陽性菌에 對해서만 나타나고 있다는 點이다. 이는 茯苓菌絲가 모든 細菌發育을 抑制하는 強力한 또다른 二次的 抗菌性物質은 없음을 말해주고 있다. 이 點은 Robbins의 實驗에서도 *Pleurotus griseus*培養液이 그람陽性菌에 對해서만 抗菌力을 보였다는 것과 一致된다. 茯苓菌絲의 抗菌力에 依한 抑制帶의 크기는 Table III과 같이 335 μ g濃度까지는 各細菌에 따른 큰 差異는 없었으나 700 μ g의 高濃度에서는 *S. aureus*와 *B. subtilis*의 18.5mm 및 17.3mm에 비해 *S. epidermidis*와 *S. faecalis*는 22.6mm 및 23.5mm로서 比較的 큰 差異를 보였다.

摘 要

茯苓의 抗菌力에 關한 性質을 調査하기 爲하여 人體病原性細菌 및 一般細菌에 미치는 抗菌效果를 實驗한 結果 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 茯苓粉末, 茯苓切片 및 茯苓抽出物은 產地別 및 種類別로 모두 抗菌力이 없었다.

2. 茯苓菌絲는 產地別 및 種類別 모두 *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus faecalis*等 4個 그람陽性菌에 對하여 抗菌力을

나타냈으며, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae* 등 6개 그림陰性菌에 對하여는 抗菌力이 없었다.

3. 茯苓菌絲의 各 濃度別에 따른 感受性 檢査 結果는 產地別 및 種類別에 따른 特異한 만한 差異는 없었 으며, 103 μ g濃度에서 부터 203 μ g, 335 μ g, 501 μ g, 700 μ g濃度까지의 平均 抑制帶를 測定한 結果 *Staphylococcus*는 各各 *aureus* 7.9mm, 11.1mm, 13.6mm, 17.1 mm, 18.5mm였고 *S. epidermidis*는 各各 7mm, 12.5 mm, 14.7mm, 17.8mm, 22.6mm, *Bacillus subtilis*는 各各 7mm, 10.5mm, 12.7mm, 14.5mm, 17.3mm, *Streptococcus faecalis*는 各各 7.2mm, 10.3mm, 13.2 mm, 17.9mm, 23.5mm로서 高濃度일 수록 크게 나타 났다.

References

- Badcock, E.C., (1941): Newcomb new-method for cultivation of wood-rot fungi. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 25:200-205.
- Bauer, A.W., Kirby, W.M.M., Sherris, J.C. and Turk, M. (1966): Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Path.*, 45:493.
- Beneke, E.S., (1963): *Calvatia*, calvacin and cancer. *Mycologia.* 55:257-270.
- Biodisk, A.B. (1971): The paper disk method in quantitative determination of bacterial sensitivity to antibiotics. A.B. Biodisk, Stockholm.
- Ericsson, H.M. and Sherris, J.C. (1971): Antibiotic sensitivity testing-Report of an international collaborative study-. *Acta Path. et Microbiol. Scandinav.*, section B. Supplement. No. 217.
- Espenshade, M.A. and Griffith, E.W. (1966): Tumor-inhibiting Basidiomycetes. Isolation and cultivation in the laboratory.¹ *Mycologia.* 58, :511-517.
- Jennison, M.W. and Richard, H., (1949): Some aspects of the physiology of wood-rotting fungi. Symp. on wood. *Nat. Res. Council and Off. Naval Res:* 336-347.
- Laviano, Trent, (1949): A study of antibiotic activity of some Basidiomycetes. *Farlowia.* 3:503-507.
- Lucas, E.H. et al., (1957): Tumor inhibitors in *Bolletus edulis* and other Holobasidiomycetes. *Antibiotics and chemotherapy.* New York, N.Y. VII, (1):1-4.
- Lucas, E.H. et al., (1959): Production of oncostatic principles *In vivo* and *in vitro* by species of the Genus *Calvatia* antibiotics annul 1958~1959, *Med. Encyclopedia, Inc.*, New York, N.Y., 493-496.
- Olson, B.H. and Gordon L. Goerner, (1965): Alpha sarcin, a new antitumor agent. I. Isolation, purification, chemical composition, and the identify of a new amino acid. *Microbiol.* 13, 314-321.
- Olson, B.H. et al., (1965): Alpha sarcin, a new antitumor agent. II. Fermentation and antitumor spectrum. *Microbiol.* 13, 322-326.
- Robbins, W.J., Frederick Kavanagh and Annette Hervey, (1947): Antibiotic substances from Basidiomycetes. I. *Pleurotus* *Proceeding of the National Academy of Science.* 33, 171-176.
- Robbins, W.J. (1950): A survey of the growth requirements of some Basidiomycetes. *Mycologia.* 42:470-476.
- Robbins, W.J. and Hervey, (1958): Wood, tomato and malt extracts and growth of some Basidiomycetes. *Mycologia.* 50:745-752.
- Wolf, Paul L., Betty Russell and Adrienne Shimoda (1975): *Practical Clinical Microbiology and Mycology: Techniques and Interpretations.* 551. Wiley Biomedical-Health public. New York.
- 朴鍾珍, 咸炯培, 李敏雄(1980): 茯苓의 人工培養에 關한 研究, 韓國菌學會誌 第8卷 第3號 133-142.
- 張云龍(1957): 云南茯苓의 加工方法, 中藥通報 第3卷 1期
- 胡天放(1957): 安徽茯苓의 培植法, 中藥通報 第3卷 6期 251-252.
- 李址烈등(1975): 微生物學 實驗書, 169, 삼일각.
- 吳錫欣등(1979): 食品微生物學 實驗書, 162, 探究堂.
- 申佶求(1973): 申氏本草學, 高文社.
- 趙仰夫(1959): 茯苓接種與採收經驗介紹, 中藥通報 第5卷 1期 14.

<Received February 14, 1982>